

氏名	松岡逸子
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙第3295号
学位授与年月日	平成9年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
学位論文名	Impact of erythrocytes on mouse embryonal development in vitro (体外受精及び胚培養環境における赤血球の意義)
論文審査委員	主査教授 荻田 幸雄    副主査教授 井上 正康 副主査教授 巽 典之

### 論文内容の要旨

【目的】 体外受精や胚培養ではしばしば2 cell blockをはじめとした各種胚発育障害みられる。これらの人工的環境は非生理的な高濃度の酸素に曝露される結果、活性酸素（ROS）の影響を受けるためと考えられるが、その実態はなお不明である。体内環境では胚の周辺は母体の赤血球その他の抗酸化防御系が発達しており、これが良好な胚発育における重要な保護機能を発現している可能性が考えられる。そこで、本研究は赤血球の抗酸化防御機構に注目し、その意義につき検討を加えたものである。

【方法】 ICR雌マウス（8週令）にhMG25単位、48時間後にhCG10単位を腹腔内投与して過排卵処理して卵管より卵細胞を採取した。またICR雄マウス（8週令）の精巣上体尾部より精子を採取し、 $1 \times 10^5$ /dishの割合で培養し、24時間培養（5% CO<sub>2</sub>インキュベーター、37℃）後に、その受精率と卵分割率を、赤血球添加群、非添加群で比較解析した。赤血球は、雌マウスより無菌的に採決したものをPBSにて3回洗浄後、最終濃度0.5% Hct値になるように調製し、培養液（Ham's F-10）に添加し実験に供した。

またICRマウスにhMG-hCGによる過排卵処理後交配させ2細胞胚を卵管より採取し、赤血球添加群と非添加群に分け、24時間培養することにより胚発育率を比較検討した。

さらにXanthine OxidaseによるROS産生下における影響を、SOD、Catalaseや赤血球を培養系に添加し、受精率と胚発育率を解析した。

【結果】 体外受精率（71～77%）は、赤血球の添加によって、影響を受けなかったが、卵分割率は赤血球添加により12.5%から42.4%に改善された。胚発育率も赤血球添加により8.3%から61.5%に上昇した。ROSによる胚発育率の低下はSOD、Catalaseや赤血球により著明に阻止できた。

【結論】 体外受精培養系における2 cell blockや胚発育不全の原因としてROSが重要であること、および体内では赤血球を始めとする抗酸化防御機構が胚発育に良好な環境を提供していることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

非生理的な体外受精や胚細胞培養環境では、各種の細胞発育障害が認められる。この原因の1つとして高濃度酸素条件などによる活性酸素（ROS, Reactive oxygen species）の影響を受けるものと考えられるが、その実態は不明である。一方、体内環境では胚周辺が血液等の抗酸化防御機構により保護されている可能性が考えられる。そこで、赤血球の抗酸化防御機構に着目し、これのマウス体外受精と胚細胞発育に及ぼす効果を検討した。

ICR雌マウス（8週齢）に過排卵処理して採取した卵細胞と過排卵処理して交配させた後に採取した

胚細胞を使用し、24時間培養（5 % CO<sub>2</sub>, 37℃）後に、その受精率、卵分割率、胚発育率を赤血球添加群（赤血球濃度；0.5 % Ht）と非添加群で比較解析した。また、上記培養系にROS産生環境を作成し、Superoxide dismutase（Cu/Zn-SOD）や0.5 % Htの赤血球などを添加し、受精率と胚発育率に及ぼす影響を解析した。その結果、体外受精率は71～77.4 %で赤血球添加による影響は認められなかったが、卵分割率は12.5 %から42.4 %と有意に改善された。また、胚発育率は8.3 %から61.5 %と赤血球添加により著明に改善された。ROSによる胚発育率低下は赤血球添加により顕著に阻止できた。これらの成績から、体外受精培養系における胚発育不全の原因としてROSの関与が考えられること、および体内では赤血球をはじめとする抗酸化防御機構が胚発育に良好な環境を提供していることが示唆された。

以上の研究は、体外受精の胚細胞培養環境改善に新知見を与えるものであり、ヒト体外受精成功率の上昇に重要な役割を果たすと考えられる業績である。よって、本研究は博士（医学）の学位を授与するに値するものと判定された。